AUS DER LABORATORIUMSGRUPPE FUER MYKOLOGIE
UND BAKTERIOLOGISCH-SEROLOGISCHE DIAGNOSTIK
DES ROBERT-KOCH-INSTITUTES BERLIN
LEITER: PRIV. DOZ. DR. MED., DR. MED. VET. F. STAIB

ZUM WACHSTUM VON STAPHYLOCOCCUS AUREUS IM PROTEOLYSE-KULTURFILTRAT VON CANDIDA ALBICANS

INAUGURAL-DISSERTATION
ZUR
ERLANGUNG DER MEDIZINISCHEN DOKTORWUERDE
AN DEN MEDIZINISCHEN FACHBEREICHEN
DER FREIEN UNIVERSITAET BERLIN

VORGELEGT VON
REINHILD GEIER
AUS NIKLASDORF

1971

Aus der Laboratoriumsgruppe für Mykologie und
bakteriologisch-serologische Diagnostik des
Robert Koch-Institutes Berlin

Leiter: Priv.Doz.Dr.med.,Dr.med.vet. F. Staib

Zum Wachstum von Staphylococcus aureus im Proteolyse-Kulturfiltrat von Candida albicans

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung der Medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Reinhild Geier
aus Niklasdorf

Referent: Priv.Doz.Dr.med.Dr.med.vet.Friedrich Staib

Korreferent: Professor Dr.med.Bernhard Schmidt

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen
Fachbereiche der Freien Universität Berlin

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Promotionsdatum: 18. November 1971

Inhaltsverzeichnis

	Seite
I. Einleitung	1
II. Methodik	4
III. Ergebnisse	14
A. Prüfung der Verwertbarkeit des Proteolyse-Kulturfiltrats von Candida albicans CBS 2730 für Sproßpilze und Bakterien	14
1. Mikrobiologische Prüfung von Serum-Protein-Medium (flüssig) nach abgelaufener Proteolyse unter Verwendung des Stammes C. albicans CBS 2730	14
2. Untersuchungen über das Proteolyse-Kulturfiltrat als Nährmedium für Staphylococcus Stämme	15
3. Zum Verhalten von Pseudomonas und Proteus Stämmen im Proteolyse-Kulturfiltrat	27
4. Nachweis mikrobiologisch verwertbarer Stickstoffverbindungen während des Proteolyseablaufs	30
B. Prüfung der Verwertbarkeit des Proteolyse-Kulturfiltrats eines frisch aus menschlichem Untersuchungsmaterial isolierten C. albicans Stammes für Bakterien	36
IV. Diskussion	38
V. Zusammenfassung	43
VI. Literaturverzeichnis	I-VI

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41547205_0011

I. Einleitung

Das auffällige Nebeneinander von Staphylococcus aureus und Candida albicans in Hauteffloreszenzen bei der granulomatösen Soormykose ist bekannt (20, 22). Diese Keimkombination konnte bisher nicht nur mittels Erregerisolierung sondern auch in Ausstrichmaterial und Gewebeschnitten festgestellt werden (20, 22). Hierbei fanden sich teilweise die Staphylokokken den Pilzzellen dicht angelagert (20). Die granulomatöse Soormykose, meist vom Kleinkindalter bis zur Pubertät verlaufend, ist in ihrer Ätiologie noch nicht völlig geklärt, wird aber weitgehend durch die Persistenz dieser beiden Keimarten in den charakteristischen Läsionen bestimmt. Eindrucksvoll ist hierbei, daß trotz Vorliegens umfangreicher mykotischer Effloreszenzen eine Sepsis durch S. aureus die häufigste Komplikation darstellt (22). Diese Keimkombination bei der granulomatösen Soormykose ist nicht etwa durch eine vorausgegangene Chemotherapie verursacht sondern wird schon mit Beginn des Krankheitsverlaufes festgestellt. Solche Gegebenheiten lassen keine gegenseitige Wachstumshemmung unter den hierbei herrschenden Substratbedingungen in vivo erwarten sondern berechtigen eher zur Vermutung einer direkten oder indirekten synergistischen Wirkung der beiden Keime, wie sie von mehreren Untersuchern angenommen wird (8, 20, 28). KONRAD und WINKLER (20) wie auch O'BRIEN (8) nehmen aufgrund ihrer in vivo Beobachtungen eine Wachstumsförderung von S. aureus durch C. albicans an. MEHNERT (28) dagegen kommt bei ihren tierexperimentellen Untersuchungen zu dem Schluß, daß eine

Gewebeschädigung durch S. aureus für ein Angehen von C. albicans Voraussetzung ist. Daß C. albicans von pathogenetischer Bedeutung bei Mischinfektionen mit Bakterien sein kann, zeigten STONE und MULLINS (49, 50) bei experimentellen Studien über die chronische Paronychie. Bei 30-tägigem Abschluß des Nagelfalzes nach Infektion mit hämolysierenden Streptokokken, Proteus mirabilis, Morganella morganii, Escherichia coli und Pseudomonas spec. konnte keine Paronychie erzeugt werden, wohl aber bei zusätzlicher Infektion mit C. albicans. Insgesamt wird bei Untersuchungen über die chronische Paronychie auf das häufige Vorkommen von C. albicans neben verschiedenen Bakterienarten, darunter relativ häufig S. aureus, hingewiesen (2, 25, 56, 57).

Außer den genannten Beispielen von besonderen Candidamykose-Verlaufsformen mit bakterieller Begleitflora, ist der saprophytäre Sproßpilzbefall von Schleimhäuten neben einer abnormen bakteriellen Flora, etwa nach Chemotherapie ebenfalls von mikrobiologischem, klinisch-diagnostischem und therapeutischem Interesse (46).

Ausgehend von diesen in vivo Beobachtungen unter besonderer Berücksichtigung der Keimkombination S. aureus und C. albicans bei der granulomatösen Soormykose stellt sich die grundsätzliche Frage: kann einer der beiden Keime für den anderen Nährsubstrat schaffend sein. Aufgrund der in jüngster Zeit bei C. albicans festgestellten Fähigkeit zur

Proteolyse (9, 18, 34, 43, 44, 45), die auch elektronenmikroskopisch bei klinischem Untersuchungsmaterial weitgehend bestätigt werden konnte (29), erschien für die Beantwortung obiger Frage die Prüfung der Verwertbarkeit der Proteolyseabbauprodukte von C. albicans für S. aureus als geeignet. Bisher wurden diese Abbauprodukte nur als Nährsubstrat für Sproßpilze diskutiert (43, 44, 47).

II. Methodik

Die Prüfung des Wachstums von Bakterien in Proteolyseendprodukten von C. albicans setzt eine Darstellung der Proteolyseaktivität der hier im Versuch stehenden C. albicans Stämme voraus. Für den Nachweis der stammspezifischen Proteolyse bei der Species C. albicans erwies sich der Serum-Protein-Agar pH 5,0 als besonders geeignet (43). Die hierbei feststellbare Proteolyseaktivität im Agargel deckte sich bisher mit der Aktivität der isolierten Exoproteasen.

1. Nachweis der Proteolyse auf Serum-Protein-Agar:

Herstellung von Serum-Protein-Agar pH 5,0:

Verwendung fand folgendes Grundsubstrat: 2,0 % Dextrose, 0,1 % KH_2PO_4, 0,05 % $MgSO_4$ x 7 H_2O, 2 % gewaschener Agar, destilliertes Wasser. Das Ganze 15 Min. bei 110°C autoklaviert, anschließend auf ca. 60°C abgekühlt und der pH-Wert 5,0 mit 0,1-n-NaOH eingestellt. Hiervon wurden 10 ml mit 2 ml einer 1 %igen sterilen Rinder-Albuminlösung (Behringwerke, Marburg/Lahn) und 0,025 ml Protovita als Wuchsstoffquelle (Deutsche Hoffmann-La Roche, Grenzach/Baden) in einer Petrischale (Durchmesser 82 mm) gemischt. Der End-pH-Wert ist unter diesen Bedingungen 5,0. Der erstarrte Nährboden muß klar und durchsichtig sein.

Nachweis der Proteolyse auf Serum-Protein-Agar pH 5,0:

Im Falle von Proteolyse zeigt C. albicans auf oben beschriebenem Medium stammspezifisch ab 2 Tagen/26°C 1. Eiweißfällung, sichtbar durch milchige Trübung des Mediums. 2. Anschließende wasserklare Aufhellung dieser Fäl-

lungsbereiche. Die Darstellung der abgelaufenen Proteolyse wird mittels Eiweißfärbung dieses bewachsenen Nährbodens durchgeführt (s. hierzu Abb. 3 Seite 37a).

Amidoschwarzfärbung (Eiweißfärbung der Serum-Protein-Agar-Platten):

Färbelösung: 12,5 g Amidoschwarz 10 B (E. Merck, Darmstadt) in 1 l Methanol-Eisessiggemisch (9 Teile Methanol und 1 Teil Eisessig).

Entfärbelösung: 10,0 l destilliertes Wasser, 1,5 l Eisessig, 0,5 l Phenol crist. (verflüssigt).

Die Platten werden mit der Amidoschwarzlösung überschichtet (Färbedauer 20 Min.), Entfärbung ca. 15 Std. (dreimalige Erneuerung der Entfärbelösung, Petrischalen randvoll gefüllt).

Beurteilung:
Im Proteolysebereich der Kulturen ist eine Anfärbung mit Amidoschwarz nicht mehr vorhanden.

2. Herstellung und Prüfung von Proteolysekulturfiltrat als Nährsubstrat:

Für die Herstellung von Proteolyse-Abbauprodukten war die Verwendung von C. albicans Stämmen mit bekannter Proteolysefähigkeit Voraussetzung. Diese Untersuchung wurde mittels der vorausgegangenen Prüfung im Agargel durchgeführt.

Für die Feststellung der Wachstumsfähigkeit von Bakterien in Proteolyseendprodukten als einziger Stickstoffquelle

erschien die Prüfung in einem flüssigen Medium nach abgelaufener Proteolyse als geeignet. Hierzu diente Serum-Protein-Medium (flüssig) als Nährsubstrat für C. albicans (43).

Herstellung von Serum-Protein-Medium (flüssig):

2 % Dextrose, 0,1 % KH_2PO_4, 0,05 % $MgSO_4$ x 7 H_2O, destilliertes Wasser. Das Ganze 15 Min. bei 110°C autoklaviert. Der pH-Wert 5,0 mit 1-n-NaOH eingestellt. Zu 100 ml einer 1 %igen Rinder-Albuminlösung wurden 1,25 ml Protovita als Wuchsstoffquelle zugegeben, anschließend mittels Seitzfilter keimfrei filtriert und dem Basismedium im Verhältnis 1:6 zugesetzt. In 1000 ml fassende Erlenmeyerkolben wurden je 600 ml Serum-Protein-Medium (flüssig) abgefüllt.

Herstellung von Proteolyse-Kulturfiltrat:

Das oben beschriebene Nährmedium wurde (je 600 ml) mit $2,5x10^6$ C. albicans Zellen (48 Std./26°C auf Sabouraud-Dextrose-Agar vorgezüchtet) in 0,05 ml einer 0,85 %igen NaCl-Lösung aufgeschwemmt, beimpft. Die Bebrütung erfolgte im Schüttelwasserbad bei 26°C für 48-60 Std. Nachdem der optimale pH-Bereich für die rein dargestellte Exoprotease von C. albicans CBS 2730 bei pH 3,2-3,5 liegt (9, 34), wurde die Inkubation bei Erreichen des pH-Wertes 3,5 abgebrochen. Zu diesem Zeitpunkt ist das Kulturmedium milchig trüb, was auf eine Keimdichte von etwa $2x10^8$ koloniebildungsfähiger Zellen/ml zurückzuführen ist.

Anschließend wurde das Ganze mittels Seitzfilter (EKS) keimfrei filtriert. Das klare Filtrat wurde mit 1-n-NaOH auf die pH-Werte 5,0, 6,0 und 7,2 eingestellt. Die pH-Messung erfolgte mit dem pH-Meter (Typ 260, Ingold, Frankfurt/Main). Die Filtrate wurden steril in Mengen zu je 5 ml in Reagenzgläser abgefüllt. Diese Medien dienten zur Prüfung auf Verwertung der Proteolyseendprodukte von C. albicans für Bakterien.

Die auxanographische Assimilationsprüfung zum Nachweis niedermolekularer Stickstoff-Verbindungen nach abgelaufener Proteolyse

Ungeachtet der noch nicht abgeschlossenen biochemischen Analyse der Proteolyseendprodukte (9, 10, 34) (s. hierzu Diskussion S. 38) schien für die Prüfung des Vorhandenseins niedermolekularer Stickstoffsubstanzen im Proteolyse-Kulturfiltrat von C. albicans die auxanographische Methode von BEIJERINCK besonders geeignet. BEIJERINCK inaugurierte dieses Verfahren als einen Teil der biochemischen Prüfung bei der Identifizierung von Keimen und arbeitete hierbei mit bekannten N- oder C-Quellen. Inzwischen bewährte sich diese Methode zum Nachweis verwertbarer biochemisch unbekannter Substanzen, wobei mit einem bekannten Keim gearbeitet wird (41). Es wird somit im vorliegenden Versuch mit einem bekannten Keim ein noch unbekanntes Material einer Verwertbarkeitsprüfung unterzogen, analog zum Serum-Rest-N-Auxanogramm (41).

Bei der Stickstoffassimilationsprüfung wird ein synthetischer Nährboden (Rezept s. unten) ohne N-Quelle in noch flüssigem Zustand mit der Keimaufschwemmung gemischt und in Platten gegossen. Auf die Oberfläche des erstarrten Mediums gibt man das interessierende Material im vorliegenden Falle die fraglich verwertbare Stickstoffquelle. Ist die aufgetragene Substanz für den Keim verwertbar, sind die Nährbedingungen komplettiert. Die Folge ist Zellvermehrung, was sich in Form einer Trübung durch Wachstum (genannt Auxanogramm) im komplettierten Nährstoffbereich (Diffusionsbereich des Auftrags) ausdrückt. Bei der Zuckerassimilationsprüfung enthält das Grundsubstrat keine Kohlehydratquelle, dagegen eine Stickstoffquelle.

Durchführung der Assimilationsprüfung:

Grundsubstrat bei der Stickstoffassimilationsprüfung 2,0 % Dextrose, 0,1 % KH_2PO_4, 0,05 % $MgSO_4 \times 7\ H_2O$, 2 % gewaschener Agar, destilliertes Wasser. Bei der Zuckerassimilationsprüfung enthält das Grundsubstrat anstelle von Dextrose 0,2 % $(NH_4)_2SO_4$. Das Grundsubstrat wird 15 Min. bei 110°C sterilisiert. Kein Wuchsstoffzusatz. Der für vorliegende Prüfung benutzte Stamm C. albicans CBS 2730 wurde 48 Std. bei 26°C auf Sabouraud-Dextrose-Agar vorgezüchtet. Die Keimaufschwemmung erfolgte in 0,85 % NaCl-Lösung. Die Keimdichte betrug ca. 2×10^7/ml. Ein ml dieser Aufschwemmung wurde mit 10 ml der auf ca. 45°C abgekühlten Grundsubstrate in Petrischalen (Durchmesser ca. 82 mm) gründlich gemischt. Nach

Erstarren wurden die Schalen zur Beseitigung des Kondenswassers offen mit der Nährbodenseite nach unten für 2 Std. bei 26°C belassen. Anschließend erfolgte der Auftrag von 0,05 ml der zu prüfenden Filtrate mittels Mikropipette. Die Filtrate waren vorher auf den pH-Wert 7,2 eingestellt worden, um eine weitere Proteolyse durch C. albicans auszuschließen. Wichtig war hierbei, daß der Auftrag in Form eines Tropfens (Durchmesser ca. 8-10 mm) in das Substrat diffundierte. Nach einer Inkubationszeit von 24 Std./26°C konnten die Ergebnisse abgelesen werden.

3. Identifizierung der geprüften Sproßpilze:
Die im Rahmen vorliegender Arbeit aus klinischem Untersuchungsmaterial isolierten Sproßpilze wurden nach der Methode von LODDER und KREEGER-VAN RIJ bestimmt (24).

4. Züchtung und Identifizierung der geprüften Bakterien:

a) Das Wachstum der Staphylococcus-Stämme (Hämolyse und Pigmentbildung) wurde auf Schafblutagar beurteilt.

Herstellung: NaCl 0,3 %, Na_2HPO_4 x 2 H_2O 0,3 %, Pepton St (Fa. Brunnengräber) 1,0 %, Fleischextrakt "Lab-Lemco" (Oxoid L 30) 1,4 %, Fadenagar 2 %, Leitungswasser. Einstellen des pH-Wertes 7,2 mit Sodalösung. Autoklavieren 30 Min./110°C; danach filtrieren und anschließend im Dampftopf 2 Std./100°C belassen. Zu dem auf 50°C abgekühlten Nähragar Zusatz von 7 % defibriniertem Schafblut, mischen und sofort in Petrischalen gießen.

b) Als Kontrollmedium bei der Prüfung auf Wachstum in Proteolyse-Kulturfiltrat diente Traubenzuckernährbouillon.

Herstellung: NaCl 0,3 %, Na_2HPO_4 x 2 H_2O 0,3 %, Pepton St (Fa. Brunnengräber) 1 %, Fleischextrakt "Lab-Lemco" (Oxoid L 30 1,4 %. Das Ganze in Leitungswasser. Anschließend im Dampftopf 30 Min./100°C. Daraufhin zweimal filtrieren und den pH-Wert 7,2 mit Sodalösung einstellen. Autoklavieren 20 Min./120°C. Zusatz von 2 % Dextrose. Abfüllen zu je 5 ml in sterile Reagenzgläser und im Dampftopf 30 Min./100°C belassen.

c)Die Prüfung der Plasmakoagulasefähigkeit der Staphylokokken erfolgte unter Verwendung von Kaninchenplasma. In Röhrchen mit einem Durchmesser von 5 mm wurden 0,5 ml Kaninchenplasma mit 1 ml 0,85 % NaCl-Lösung verdünnt und anschließend in das Ganze 1 Öse Bakterienkultur eingerieben. Nach 1, 2 und 24-stündiger Aufbewahrung bei 37°C erfolgte die Beurteilung.

d)Die Prüfung der Mannitspaltung bei Staphylokokken wurde auf Mannit-Kochsalz-Agar nach CHAPMAN durchgeführt.

Herstellung: Fleischextrakt "Lab-Lemco" (Oxoid L 30) 0,1 %, Pepton (Oxoid L 37) 1,0 %, Mannit 1,0 %, Kochsalz 7,5 %, Phenolrot 0,0025 %, Agar Nr. 3 (Oxoid L 13) 1,5 %, destilliertes Wasser. Auf pH 7,5 einstellen, 15 Min./120°C autoklavieren und in Petrischalen gießen.

e)Die geprüften Stämme der Gattungen Proteus und Pseudomonas wurden nach den gegenwärtig gültigen Kriterien identifiziert (7).

5. Geprüfte Pilz- und Bakterienstämme:

Pilze:

Zur Herstellung des Proteolyse-Kulturfiltrates diente der Referenzstamm C. albicans CBS 2730 (Centraalbureau voor Schimmelcultures, Delft/Holland). Von diesem Stamm wurden in früheren Arbeiten die hier zur Diskussion stehenden Proteasen rein dargestellt und charakterisiert (9, 34). Als Kontrollstamm diente C. albicans M 178, der aus Sputum isoliert worden war.

Bakterien:

Die im folgenden aufgeführten Bakterien wurden auf ihre Wachstumsfähigkeit im Proteolyse-Kulturfiltrat von C. albicans CBS 2730 geprüft:

Staphylococcus

a) Staphylococcus aureus mit folgenden Eigenschaften:
Pigmentbildung: +, ß-Hämolyse auf Blutagar: +,
Plasmakoagulase: +, Mannitspaltung: +

Herkunft der Stämme:

Blutkultur	(6)
Sputum	(14)
Wundabstrich	(5)
Galle	(2)
Haut	(5)
Urin	(2)
Duodenalgalle	(2)
Fingernagel	(2)
Trachealabstrich	(1)
Vaginalabstrich	(1)
insgesamt	40 Stämme

b) Staphylococcus spec. mit folgenden Eigenschaften:
Pigmentbildung: +, ß-Hämolyse auf Blutagar: +,
Plasmakoagulase: Ø, Mannitspaltung: +

Herkunft der Stämme:

Wundabstrich	(3)
insgesamt	3 Stämme

c) Staphylococcus spec. mit folgenden Eigenschaften:
Pigmentbildung: Ø, ß-Hämolyse auf Blutagar: Ø,
Plasmakoagulase: +, Mannitspaltung: +

Herkunft der Stämme:

Blutkultur	(2)
Sputum	(1)
Urin	(2)
insgesamt	5 Stämme

d) Staphylococcus spec. mit folgenden Eigenschaften:
Pigmentbildung: Ø, ß-Hämolyse auf Blutagar: Ø,
Plasmakoagulase: Ø, Mannitspaltung: +

Herkunft der Stämme:

Haut	(1)
Blut	(1)
Urin	(2)
insgesamt	4 Stämme

e) Staphylococcus spec. mit folgenden Eigenschaften:
Pigmentbildung: Ø, ß-Hämolyse auf Blutagar: Ø,
Plasmakoagulase: +, Mannitspaltung: Ø

Herkunft der Stämme:

Blut	(2)
insgesamt	2 Stämme

Pseudomonas

a) Pseudomonas aeruginosa:

Herkunft der Stämme:

Sputum	(2)
Katheterurin	(1)
Abszeßeiter	(1)
insgesamt	4 Stämme

b) P. fluorescens:

Herkunft der Stämme:

Sputum	(2)
insgesamt	2 Stämme

Proteus

a) P. vulgaris:

Herkunft des Stammes:

Katheterurin	(1)
insgesamt	1 Stamm

b) P. mirabilis:

Herkunft des Stammes:

Katheterurin	(1)
insgesamt	1 Stamm

III. Ergebnisse

A. Prüfung der Verwertbarkeit des Proteolyse-Kulturfiltrats von C. albicans CBS 2730 für Sproßpilze und Bakterien

1. Mikrobiologische Prüfung von Serum-Protein-Medium (flüssig) nach abgelaufener Proteolyse unter Verwendung des Stammes C. albicans CBS 2730.

Grundsätzlich interessierte das Vorhandensein verwertbarer niedermolekularer Stickstoffsubstanzen im Kulturfiltrat von C. albicans CBS 2730 nach abgelaufener Proteolyse. Diese Prüfung wurde mit Hilfe der auxanographischen Methode von BEIJERINCK durchgeführt.

Ergebnis:

a) N-Assimilationsprüfung:

aa) Der Auftrag von 0,05 ml von Serum-Protein-Medium (flüssig) ließ nach 5 Tagen/26°C im Auftrags- bzw. Diffusionsbereich kein Wachstum d.h. kein Auxanogramm erkennen. Mittels Eiweißfärbung unter Verwendung von Amidoschwarz wurde zum Abschluß des besprochenen Versuches der Auftrag als intakter, unbewachsener, gefärbter Fleck bestätigt. Die Feststellung zeigt, daß Albumin unter diesen methodischen Voraussetzungen nicht als N-Quelle verwertet werden kann.

bb) Der Auftrag von Proteolyse-Kulturfiltrat (s. Methodik) ließ schon nach 24 Std./26°C ein deutliches Wachstum d.h. Auxanogramm im Diffusionsbereich erkennen. Das Aussehen der Auxanogramme entsprach sol-

chen unter Verwertung niedermolekularer Stickstoffsubstanzen hervorgerufenen z.B. mittels Kreatinin, Harnstoff u.a.

b) C-Assimilationsprüfung:

Der Auftrag von 0,05 ml Serum-Protein-Medium (flüssig) pH 7,2 führte zu einem deutlichen Auxanogramm. Das Proteolyse-Kulturfiltrat dagegen ließ die Ausbildung eines nur schwach erkennbaren Auxanogramms zu.

Besprechung der Ergebnisse:

Mit diesem einleitenden Versuch wurde festgestellt, daß nach abgelaufener Proteolyse für C. albicans verwertbare niedermolekulare Stickstoffsubstanzen vorliegen.

2. Untersuchungen über das Proteolyse-Kulturfiltrat als Nährmedium für Staphylococcus Stämme.

a) Zum Verhalten von S. aureus in Proteolyse-Kulturfiltrat:

Im folgenden orientierenden Versuch sollte geprüft werden, ob die durch C. albicans CBS 2730 aus Albumin freigesetzten niedermolekularen Stickstoffsubstanzen in ihrer originären Zusammensetzung und Konzentration nicht nur für C. albicans sondern auch für die hier in Frage stehenden Bakterien substratbietend sind.

Stammaterial:

S. aureus M 106 isoliert vom Daumennagel eines Kindes, das an granulomatöser Soormykose erkrankt und mit Amphotericin B behandelt worden war. Bei der anschließen-

den Kontrolluntersuchung konnte nicht mehr C. albicans wohl aber noch S. aureus isoliert werden.

Geprüfte Nährmedien:

Serum-Protein-Medium (flüssig)	pH 7,2
Proteolyse-Kulturfiltrat	pH 3,7 - 4,0
Proteolyse-Kulturfiltrat	pH 5,0
Proteolyse-Kulturfiltrat	pH 6,0
Proteolyse-Kulturfiltrat	pH 7,2
Dextrose-Nährbouillon	pH 7,2

Inokulum:

S. aureus M 106

Keimdichte 25 x 10^3 in 0,05 ml 0,85 NaCl-Lösung. Die Vorzüchtung der Kultur erfdgte auf Blutagar 24 Std./37°C.

Ergebnisse:

Serum-Protein-Medium (flüssig)	pH 7,2
nach 96 Std./37°C:	unverändert klar
Proteolyse-Kulturfiltrat	pH 3,7 - 4,0
nach 96 Std./37°C:	unverändert klar
Proteolyse-Kulturfiltrat	pH 5,0
nach 96 Std./37°C:	unverändert klar
Proteolyse-Kulturfiltrat	pH 6,0
nach 72 Std./37°C:	Trübung*
Proteolyse-Kulturfiltrat	pH 7,2
nach 24 Std./37°C:	einsetzende Trübung*
Dextrose-Nährbouillon	pH 7,2
nach 24 Std./37°C:	Trübung

---

* s. hierzu A, 2b) (Keimzahlbestimmung)

Besprechung der Ergebnisse:

Mit vorliegenden Befunden wurde festgestellt, daß das Proteolyse-Kulturfiltrat von C. albicans CBS 2730 im Gegensatz zum Serum-Protein-Medium (flüssig) ein Nährsubstrat für den geprüften S. aureus Stamm M 106 darstellt. Die Verwertung dieser Substanzen ist für S. aureus M 106 allerdings nicht beim pH-Optimum der Proteolyse von C. albicans sondern bei pH-Werten um 6,0 bis 7,2 möglich.

b) Keimzahlbestimmung

Zur Absicherung und weiteren Beurteilung der vorausgegangenen Befunde wurden Keimzählungen von S. aureus im Proteolyse-Kulturfiltrat und den Vergleichsmedien durchgeführt (s. Tab. I).

Der Wachstumsvergleich erfolgte unter Verwendung folgender Medien:

Dextrose-Nährbouillon	pH 7,2
Proteolyse-Kulturfiltrat	pH 7,2
Serum-Protein-Medium (flüssig)	pH 7,2

Die Medien sind zu 5 ml steril in Reagenzgläser abgefüllt.

Inokulum:

$5{,}2 \times 10^2$ Keime in 0,05 ml 0,85 % NaCl-Lösung aufgeschwemmt. Bebrütungstemperatur: 37°C.

Über einen Zeitraum von 72 Std. wurde in Abständen von 24 Std. die Keimvermehrung mittels Plattenverfahren be-

stimmt. In Dextrose-Nährbouillon wurde die Keimdichte nur nach 24 Std. bestimmt.

Besprechung der Ergebnisse:

Die Keimzählung von S. aureus M 106 in Serum-Protein-Medium (flüssig) belegt deutlich die Nichtverwertbarkeit von Albumin als N-Quelle für S. aureus. Im Proteolyse-Kulturfiltrat vermehrt sich S. aureus wenn auch, wie zu erwarten, langsamer als in Dextrose-Nährbouillon. Die Keimdichte einer 72 Std. alten Kultur im Proteolyse-Kulturfiltrat entspricht der einer 24 Std. alten in Dextrose-Nährbouillon (s. hierzu Tab. I Seite 19).

Tabelle I

Keimzahlbestimmungen bei S. aureus (M 106) in Proteolyse-Kulturfiltrat, Dextrose-Nährbouillon und Serum-Protein-Medium (flüssig)

Bebrütungszeit 37°C	Proteolyse-Kulturfiltrat pH 7,2	Dextrose-Nährbouillon pH 7,2	Serum-Protein-Medium (fl.) pH 7,2
0 Std.	$5{,}2 \times 10^2$/ml	$5{,}2 \times 10^2$/ml	$5{,}2 \times 10^2$/ml
24 Std.	$2{,}4 \times 10^4$/ml	$2{,}0 \times 10^8$/ml	- x
48 Std.	$4{,}8 \times 10^7$/ml		- x
72 Std.	$5{,}0 \times 10^8$/ml		- x

Zeichenerklärung:

- = Kein Wachstum

x = Keimzahl mittels Plattenverfahren nicht mehr sicher bestimmbar. Im Anreicherungsverfahren durch Zusatz von Dextrose-Nährbouillon Nachweis von S. aureus.

c) Wachstumsprüfung von S. aureus Stämmen verschiedenster Herkunft im Proteolyse-Kulturfiltrat

Aufgrund der Feststellung, daß ein Stamm von S. aureus, der bei einer granulomatösen Soormykose isoliert wurde, im Proteolyse-Kulturfiltrat eines C. albicans Stammes günstige Wachstumsbedingungen vorfindert, stellte sich die Frage, inwieweit diese Feststellung für Staphylococcus Stämme verschiedenster Provenienz Gültigkeit hat.

Stammaterial:

40 Stämme von S. aureus mit den Eigenschaften: gelbes Pigment, ß-Hämolyse auf Blutagar, Plasmakoagulase, Mannitspaltung.

Die Herkunft der Stämme ist in Tabelle II vermerkt.

Die Stämme wurden in Proteolyse-Kulturfiltrat pH 5,0, pH 6,0, pH 7,2, Serum-Protein-Medium (flüssig) pH 7,2 und Dextrose-Nährbouillon pH 7,2 nach denselben methodischen Voraussetzungen wie unter 2, a) geprüft. Beobachtungszeit: 96 Std./37°C.

Inokulum:

Ca. 10 x 10^4 Keime in 0,05 ml 0,85 % NaCl-Lösung.

Wachstumsbeurteilung:

1. Beurteilung der sichtbaren Trübung,
2. Kulturelle Wachstumsbeurteilung mittels Ausimpfung auf Blutagar.

Ergebnisse:

Die stammspezifische Verhaltensweise der S. aureus Stämme in Proteolyse-Kulturfiltrat machte eine tabellarische Erfassung notwendig (s. Tab. II).

1. Keiner der geprüften S. aureus Stämme führte zu einer sichtbaren Trübung von Serum-Protein-Medium (flüssig, pH 7,2, d.h. analog der Verhaltensweise von S.aureus M 106 im Versuch 2, b) bot dieses Medium kein Nährsubstrat für S. aureus ungeachtet seiner Provenienz.

2. 37 von 40 geprüften Stämmen zeigten innerhalb der Beobachtungszeit von 96 Std. in Proteolyse-Kulturfiltrat Wachstum. Die stammspezifische Verhaltensweise geht aus den in Tabelle II zusammengefaßten Ergebnissen deutlich hervor.

3. 29 Stämme boten bereits nach 48-stündiger Bebrütungszeit in den Proteolyse-Kulturfiltraten pH 6,0 oder pH 7,2 deutliches Wachstum.

4. 22 Stämme wuchsen im Proteolyse-Kulturfiltrat pH 5,0.

Insgesamt geht aus den vorliegenden Befunden hervor, daß die Verwertbarkeit der Proteolyseendprodukte für S. aureus hinsichtlich der Wasserstoffionenkonzentration stammspezifisch ist (s. hierzu Abb. 1).

Tabelle II

Wachstumsprüfung von S. aureus Stämmen im Proteolyse-Kulturfiltrat von C. albicans CBS 2730

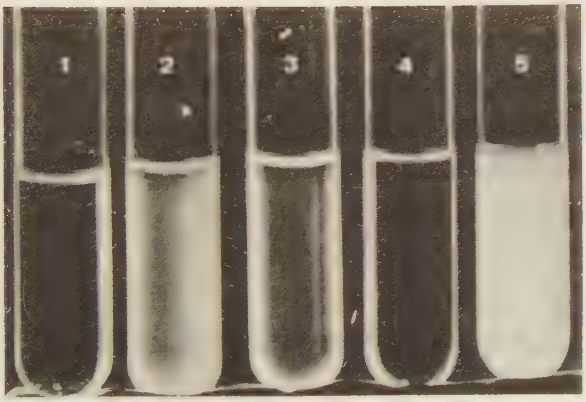
Stamm-Nr.:	Herkunft	PKf pH5,0	PKf pH6,0	PKf pH7,2	SPM pH7,2	DNb pH7,2
V 57	Wundabstr.	-	72	48	-	24
M 58	Wundabstr.	-	96	48	-	24
M 64	Sputum	96	96	-	-	24
M 103	Kopfhaut	-	72	48	-	24
M 104	Haut	96	72	48	-	24
M 105	Nagel	-	72	48	-	24
M 106	Nagel	-	72	48	-	24
M 178	Sputum	48	48	48	-	24
M 135	Sputum	96	48	48	-	24
M 237	Sputum	48	48	48	-	24
M 242	Urin	96	48	48	-	24
M 270	Wundabstr.	72	72	48	-	24
M 421	Sputum	-	48	48	-	24
V 766	Sputum	-	96	-	-	24
V 859	Sputum	-	48	-	-	24
RVK 888	Wundabstr.	72	72	72	-	24
V 889	Wundabstr.	-	72	48	-	24
RVK 944	Urin	-	48	72	-	24
V 962	Sputum	96	48	48	-	24
V 972	Sputum	72	48	48	-	24
RVK 974	Galle	96	72	-	-	24
V 982	Blut	72	48	72	-	24
V 989	Sputum	72	48	48	-	24
RVK 1049	Wundabstr.	72	48	72	-	24
RVK 1055	Wundabstr.	-	48	72	-	24
RVK 1117	Sputum	72	72	48	-	24
RVK 1132	Blut	72	48	48	-	24
RVK 1223	Sputum	72	72	72	-	24
M 329	Haut	-	96	-	-	24
V 1154	Blut	-	48	72	-	24
V 1203	Sputum	72	48	48	-	24
RVK1139II	Blut	72	48	24	-	24
RVK 1623	Galle	48	48	-	-	24
V 1240	Blut	-	72	-	-	24
V 1230	Rachenabstr.	72	48	48	-	24
V 1316	Blut	-	72	72	-	24
M 339	Sputum	72	-	72	-	24
M 336	Vag.Abstr.	-	-	-	-	24
M 328	Haut	-	-	-	-	24
M 323	Haut	-	-	-	-	24

Zeichenerklärung:

PKf = Proteolyse-Kulturfiltrat
SPM = Serum-Protein-Medium (flüssig)
DNb = Dextrose-Nährbouillon
Zahl = Auftreten sichtbarer Trübung nach Std./37°C, d.h. Wachstum
- = keine sichtbare Trübung

Abbildung 1

Beispiel einer Wachstumsprüfung von S. aureus (RVK 1623)
im Proteolyse-Kulturfiltrat von C. albicans CBS 2730



von links nach rechts:

1. Proteolyse-Kulturfiltrat pH 7,2: kein Wachstum
2. Proteolyse-Kulturfiltrat pH 6,0: Wachstum
3. Proteolyse-Kulturfiltrat pH 5,0: Wachstum

Kontrollmedien:

4. Serum-Protein-Medium (flüssig) pH 7,2: kein Wachstum
5. Dextrose-Nährbouillon pH 7,2: Wachstum

Photo nach 48-stündiger Bebrütungszeit bei 37°C.

d) Wachstumsprüfung von biologisch uneinheitlichen Staphylococcus Stämmen.

Das "begrenzt einheitliche" Verhalten von S. aureus Stämmen im Proteolyse-Kulturfiltrat veranlaßte eine entsprechende Prüfung von Staphylococcus Stämmen, die sich hinsichtlich Pigmentbildung, Hämolysefähigkeit, Plasmakoagulase und Mannitspaltung uneinheitlich verhielten.

Die geprüften Staphylococcus Stämme sind ihren differenten Eigenschaften entsprechend in Tabelle II aufgeführt. Die Stämme wurden in denselben Medien und nach denselben methodischen Voraussetzungen wie unter 2, a) geprüft.

Inokulum:
Ca. 10 x 10^4 Keime in 0,05 ml 0,85 %NaCl-Lösung.

Ergebnisse:
Die wesentlichen Ergebnisse dieses vergleichenden Versuches wurden summarisch in Tabelle III zusammengefaßt.

Besprechung der Ergebnisse:
Ungeachtet der geringen Zahl der geprüften biologisch uneinheitlichen Staphylococcus Stämme sei auf deren Verhaltensweise hingewiesen.

Auffälligerweise fand sich bei den unpigmentierten Stämmen mit und ohne positiver Koagulasefähigkeit ein verzögertes oder völliges Fehlen des Wachstums im Proteolyse-

Kulturfiltrat. Für ein aufschlußreiches Ergebnis wäre aber eine entsprechend große Zahl von Stämmen mit diesen Eigenschaften erforderlich, wie auch zur Klärung der Frage inwieweit gelbpigmentierte Koagulase negative Stämme im Proteolyse-Kulturfiltrat vermehrungsfähig sind.

Tabelle III

Zusammenfassende Ergebnisse über die Wachstumsprüfung von biologisch uneinheitlichen Staphylococcus Stämmen und Stämmen von S. aureus im Proteolyse-Kulturfiltrat von C. albicans CBS 2730

Biologische Eigenschaften der Staphylococcus Stämme	Anzahl der geprüften Stämme	Trübung innerhalb 96 Std.in PKf pH 6,0 oder pH 7,2	Trübung nach 48 Std. in PKf pH 6,0 oder pH 7,2	Trübung innerhalb 96 Std.in PKf pH 5,0	Wachstum in SPM
S. aureus P: gelb H: + Pl: + M: +	40	37	29	22	0
Staphylococcus sp. P: gelb H: + Pl: - M: +	3	3	2	1	0
Staphylococcus sp. P: - H: - Pl: + M: +	5	4	0	1	0
Staphylococcus sp. P: - H: - Pl: - M: +	4	2	0	0	0
Staphylococcus sp. P: - H: - Pl: + M: -	2	0	0	0	0

Zeichenerklärung:

PKf = Proteolyse-Kulturfiltrat
SPM = Serum-Protein-Medium (flüssig)
Zahl= Anzahl der Stämme

P = Pigment
H = ß-Hämolyse
Pl = Plasmakoagulase
M = Mannitspaltung

3. Zum Verhalten von Pseudomonas und Proteus Stämmen im Proteolyse-Kulturfiltrat.

Vergleichend zum Verhalten von S. aureus im Proteolyse-Kulturfiltrat interessierte das Verhalten der im folgenden aufgeführten Bakterien:

Stämme:

P. aeruginosa 4

P. fluorescens 2

P. mirabilis 1

P. vulgaris 1

Versuchsanordnung wie unter 2, a).

Inokulum:

Ca. 5 x 10^4 Keime in 0,05 ml 0,85 % NaCl-Lösung.

Ergebnisse:

s. Tabelle IV.

Besprechung der Ergebnisse:

Im Gegensatz zu S. aureus wachsen P. aeruginosa und P. fluorescens im Serum-Protein-Medium (flüssig) pH 7,2. Deutlich aber ist auch für Pseudomonas das Proteolyse-Kulturfiltrat ein günstigeres Nährsubstrat als Serum-Protein-Medium (flüssig), was durch laufende Keimzahlbestimmungen während einer Beobachtungszeit von 48 Std. bestätigt werden konnte.

Die geprüften Stämme P. vulgaris und P. mirabilis zeigten im Serum-Protein-Medium (flüssig) eine Vermehrung, die nicht durch sichtbare Trübung sondern nur mittels

Keimzahlbestimmung ermittelt werden konnte. Im Proteolyse-Kulturfiltrat dagegen fanden beide geprüften Proteus Stämme günstige Wachstumsbedingungen.

Aufgrund vorliegender Befunde bietet das Proteolyse-Kulturfiltrat für Pseudomonas und Proteus günstigere Wachstumsbedingungen als für Staphylococcus Stämme (s. Tab. IV).

Tabelle IV

Wachstumsprüfung von Pseudomonas und Proteus Stämmen im Proteolyse-Kulturfiltrat von C. albicans CBS 2730

Stamm	Herkunft	PKf pH5,0	PKf pH6,0	PKf pH7,2	SPM pH7,2	DNb pH7,2
V 752 Pseudomonas aeruginosa	Eiter	48	48	24	72	24
V 802 Pseudomonas aeruginosa	Urin	48	48	24	72	24
V 1002 Pseudomonas aeruginosa	Sputum	48	24	24	72	24
V 1003 Pseudomonas aeruginosa	Sputum	48	24	24	96	24
M 204 I Pseudomonas fluorescens	Sputum	48	48	24	72	24
M 204 II Pseudomonas fluorescens	Sputum	48	48	24	72	24
S 70 Proteus mirabilis	Urin	-	48	24	-*)	24
S 72 Proteus vulgaris	Urin	-	48	48	-*)	24

Zeichenerklärung:

PKf = Proteolyse-Kulturfiltrat
SPM = Serum-Protein-Medium (flüssig)
DNb = Dextrose-Nährbouillon
Zahl = Auftreten sichtbarer Trübung nach Std./37°C
\- = Keine sichtbare Trübung
-*) = Keine sichtbare Trübung, Vermehrung durch Keimzählung nachgewiesen

4. Nachweis mikrobiologisch verwertbarer niedermolekularer Stickstoffverbindungen während des Proteolyseablaufs.

Ungeachtet der Tatsache, daß der hier in Frage stehende C. albicans Stamm CBS 2730 nach bisherigen Prüfungen optimal um pH 3,5 proteolysiert, interessierte der mögliche Anfall verwertbarer niedermolekularar Stickstoffsubstanzen vom Beginn der Beimpfung von Serum-Protein-Medium (flüssig) pH 5,0 bis zum Zeitpunkt der Einstellung des pH-Wertes um 3,5. Zu diesem Zweck wurden 600 ml Serum-Protein-Medium (flüssig) pH 5,0 mit ca. 5×10^6 koloniebildungsfähigen Zellen von C. albicans CBS 2730 in 0,05 ml 0,85 % NaCl-Lösung beimpft. Über einen Zeitraum von 48 Std. wurde in Abständen von 8 bzw. 6 Std. vom flüssigen, bewachsenen Kulturmedium entnommen, keimfrei filtriert und das Filtrat einerseits auxanographisch geprüft (Testkeim C. albicans CBS 2730), andererseits Bakterien als Nährmedium angeboten.

a) Auxanographische Prüfung des Kulturfiltrats:

Ergebnisse sind in Tabelle V wiedergegeben.

Besprechung der Ergebnisse:

Die auxanographische Prüfung der Kulturfiltrate - während des Proteolyseablaufs gewonnen - bringt deutlich zum Ausdruck, daß bereits nach 28 bis 36-stündiger Bebrütungszeit bei gleichzeitiger Senkung auf pH-Werte von 4,5 bis 4,0 nachweisbare verwertbare niedermoleku-

lare Stickstoffsubstanzen auftreten (s. hierzu Tab. V und Abb. 2). Der gleichzeitige Dextroseverbrauch durch C. albicans während der Versuchsdauer wird durch die auxanographischen Ergebnisse deutlich belegt.

Tabelle V

Auxanographische Prüfung des Kulturfiltrats
während des Proteolyseablaufs
Testkeim: C.albicans CBS 2730

Entnahmezeit von Kulturmedium in Stunden nach Beimpfung	pH-Wert zum Zeitpunkt der Entnahme	Auxanogramm bei Angebot des Filtrats als Zuckerquelle	Auxanogramm bei Angebot des Filtrats als Stickstoffquelle
8	4,7	+ (dicht)	- Eiweißfleck*)
12	4,5	+ (dicht)	- Eiweißfleck
20	4,7	+ (mäßig dicht)	- **)
28	4,5	+ (mäßig dicht)	- **)
36	4,0	+ (mäßig dicht)	+ (locker)
44	3,7	+ (locker)	+ (dicht)
48	3,5	+ (locker)	+ (dicht)

s. hierzu Abb. 2

Zeichenerklärung:

*) = intakter Eiweißfleck mittels Eiweißfärbung nachgewiesen

- = kein Auxanogramm

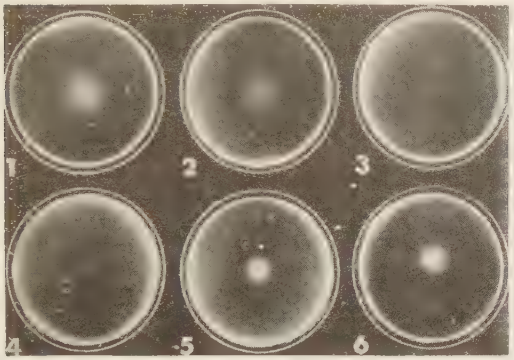
**)= kein Eiweißfleck, gefälltes Albumin möglicherweise bei Filtration zurückgehalten

+ = Auxanogramm (zusätzlich wurde eine Beurteilung der Wachstumsdichte des Auxanogramms versucht; als Intensitätsgrade wurden die Bezeichnungen dicht, mäßig dicht und locker gewählt).

Abbildung 2

Ein Ausschnitt aus den Ergebnissen der auxanographischen Prüfung der Kulturfiltrate während des Proteolyseablaufs

(s. hierzu Tab. V)



Nach 8 Std./26°C

1. Positives Kohlehydratauxanogramm (dicht) vom Serum-Protein-Medium 8 Std. nach Beimpfung mit C. albicans CBS 2730.

4. Negatives Stickstoffauxanogramm (der angedeutete Fleck ist durch den Auftrag verursacht (s. Hinweis Tab. V).

Nach 36 Std./26°C

2. Noch positives Kohlehydratauxanogramm (mäßig dicht).

5. Positives Stickstoffauxanogramm (s. hierzu Tab. V und Tab. VI).

Nach 48 Std./26°C

3. Lockeres nur noch schwach angedeutetes Kohlehydratauxanogramm.

6. Dichtes Stickstoffauxanogramm (s. hierzu Tab. V und Tab. VI).

Foto-Verkleinerung: 3,7:1

b) Prüfung der bakteriellen Verwertbarkeit des Kulturfiltrats beim Proteolyseablauf:

Geprüft wurden dieselben Kulturfiltrate wie bei der auxanographischen Prüfung des vorausgegangenen Versuchs, die auf die pH-Werte 5,0, 6,0 und 7,2 eingestellt wurden.

Stämme:

S. aureus M 106

P. mirabilis S 72

P. aeruginosa V 802.

Ergebnisse:

In Übereinstimmung mit dem vorausgegangenen Versuch, bei dem mittels der auxanographischen Methode festgestellt werden konnte, daß bereits nach 36-stündiger Kulturdauer erstmals für C. albicans verwertbare niedermolekulare Stickstoffsubstanzen (vor Erreichen des pH-Wertes 3,5) auftraten, lag auch in dem entsprechenden Kulturfiltrat Wachstum von S. aureus vor. Daraus kann geschlossen werden, daß die hierbei anfallenden Abbauprodukte für S. aureus wie für C. albicans CBS 2730 nährstoffbietend sind. Dieselbe Feststellung gilt für den geprüften Stamm von P. mirabilis S 72. Auch P. aeruginosa, der zwar wie in vorausgegangenen Prüfungen gezeigt werden konnte, Albumin nach längerer Bebrütungszeit als Stickstoffquelle nutzen kann, entwickelte in dem nach 36 Std. gewonnenen Proteolyse-Kulturfiltrat ein üppiges Wachstum (s. Tab. VI).

Tabelle VI

Wachstumsprüfung von S. aureus M 106, M. mirabilis S 72 und P. aeruginosa V 802 in den Kulturfiltraten von C. albicans CBS 2730 während des Proteolyseablaufs

Entnahmezeit von Kulturmedium in Stunden nach Beimpfung	S. aureus M 106 in Kulturfiltrat			P. mirabilis S 72 in Kulturfiltrat			P. aeruginosa V 802 in Kulturfiltrat		
	pH5,0	pH6,0	pH7,2	pH5,0	pH6,0	pH7,2	pH5,0	pH 6,0	pH7,2
8	-	-	-	-	-	-	-	72	72
12	-	-	-	-	-	-	72	72	72
20	-	-	-	-	-	-	72	72	48
28	-	-	-	-	-	-	72	48	48
36	-	96	96	-	96	48	72	48	24
44	-	48	96	-	72	48	72	48	24
48	-	48	48	-	72	48	72	48	24

Zeichenerklärung:

Zahl = Auftreten sichtbarer Trübung, d.h. Wachstum nach Std./37°C

\- = Keine sichtbare Trübung

B. Prüfung der Verwertbarkeit des Proteolyse-Kulturfiltrats eines frisch aus menschlichem Untersuchungsmaterial isolierten C. albicans Stammes für Bakterien

Ausgehend von den Feststellungen, die mit dem Referenzstamm C. albicans CBS 2730 gewonnen werden konnten, interessierte die Verwertbarkeit des Proteolyse-Kulturfiltrats von einem Stamm, der frisch aus klinischem Untersuchungsmaterial isoliert wurde. Material und Methodik entsprechen der Durchführung unter A.

Der geprüfte Stamm C. albicans M 178 wurde aus Sputum neben S. aureus M 178 isoliert.

Dieser C. albicans Stamm zeigte auf Serum-Protein-Agar eine Proteolyseaktivität, die der von C. albicans CBS 2730 entsprach. Das Proteolyse-Kulturfiltrat wurde bei Erreichen von pH 3,7 gewonnen.

Ergebnisse:

a) S. aureus M 178, aus demselben Sputum wie C. albicans M 178 isoliert, wuchs in dem Proteolyse-Kulturfiltrat von C. albicans M 178 bei pH 5,0, 6,0 und 7,2 nach 48 Std./37°C. Dieses Verhalten entsprach völlig dem im Proteolyse-Kulturfiltrat von C. albicans CBS 2730.

b) Von den mit Proteolyse-Kulturfiltrat von C. albicans CBS 2730 geprüften 40 S. aureus Stämmen wurden 35 Stämme im Proteolyse-Kulturfiltrat von C. albicans M 178 auf Wachstumsfähigkeit geprüft. Hierbei zeigte

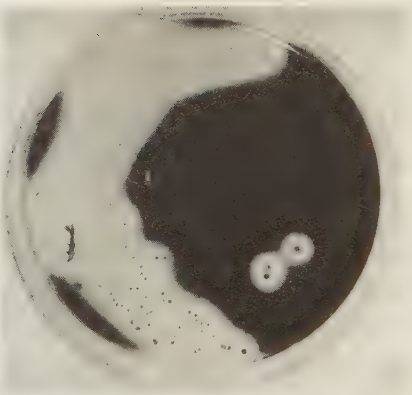
nur S. aureus V 1316, abweichend vom Filtrat von C. albicans CBS 2730, kein Wachstum.

In Übereinstimmung mit dem Filtrat von C. albicans CBS 2730 konnte auch im Filtrat von C. albicans M 178 bei den S. aureus Stämmen M 336, M 328 und M 323 kein Wachstum festgestellt werden. Auch die biologisch uneinheitlichen Staphylococcus Stämme verhielten sich im Proteolyse-Kulturfiltrat von C. albicans M 178 weitgehend entsprechend dem Wachstum im Proteolyse-Kulturfiltrat von C. albicans CBS 2730. Ein übereinstimmendes Verhalten boten auch die Stämme von Proteus und Pseudomonas.

Besprechung der Ergebnisse:

Der Kontrollversuch mit einem frischen Isolat eines proteolysierenden C. albicans Stammes bestätigt die Verwertbarkeit von Proteolyseprodukten für die geprüften Bakterien.

Abbildung 3



Prüfung der Proteolysefähigkeit bei C. albicans M 178 (aus Sputum eines Lungenkranken) auf Serum-Protein-Agar nach 5 Tagen/26°C. Darstellung der proteolysierten Bereiche durch Eiweißfärbung mit Amidoschwarz und anschließender Entfärbung. Weiß bedeutet Fehlen und schwarz bedeutet Vorhandensein von Eiweiß. Die dunklen Punkte im hellen Hof sind Kolonien von C. albicans.

IV. Diskussion

Der angebotene Eiweißkörper Albumin konnte unter den gewählten methodischen Voraussetzungen als Stickstoffquelle von S. aureus nicht verwertet werden. Dagegen bot das nach abgelaufenem Albuminabbau durch C. albicans CBS 2730 gewonnene Proteolyse-Kulturfiltrat 37 von 40 S. aureus Stämmen ein Nährsubstrat (48). Dieses native Kulturfiltrat wurde nur hinsichtlich der Wasserstoffionenkonzentration verändert; die hierbei gewählten pH-Werte waren 5,0, 6,0 und 7,2. Die Nutzbarkeit der Proteolyseprodukte zeigte eine stammspezifische Abhängigkeit von der Wasserstoffionenkonzentration der Proteolyse-Kulturfiltrate. Diese stammspezifische Verhaltensweise verdient besondere Beachtung, nachdem 3 von 40 Stämmen in diesem Substrat überhaupt nicht wachstumsfähig sind. Eine Erklärung für die Stammspezifität muß offen bleiben, auch im Hinblick auf die noch nicht analysierte Zusammensetzung des Proteolyse-Kulturfiltrats, das nach bisherigen Schätzungen von FASOLD (10) aus mehr als 200 verschiedenen Peptidverbindungen bestehen soll. Das uneinheitliche Verhalten von S. aureus Stämmen im Proteolyse-Kulturfiltrat von C. albicans CBS 2730 entspricht der großen Variationsbreite der Staphylokokken in ihren bekannten verschiedenen biologischen Aktivitäten (5, 6, 11, 12, 13, 17, 19, 23, 26, 31, 32, 33, 35, 36, 38, 39, 40, 53). Die Feststellung, daß auch Stämme der Gattungen Pseudomonas und Proteus im Proteolyse-Kulturfiltrat von C. albicans günstige Substratbedingungen vorfinden, läßt auf einen unspezi-

fischen Nährwert dieses Kulturfiltrats für verschiedene Mikroorganismen schließen. Stämme von Pseudomonas und Proteus, die wie festgestellt werden konnte, zwar zum Abbau von Albumin befähigt sind, zeigten im Proteolyse-Kulturfiltrat von C. albicans wesentlich üppigeres Wachstum.

Die Befunde, die unter Verwendung des Sammlungsstammes C. albicans CBS 2730 - bei dem die Protease rein dargestellt und charakterisiert wurde (9, 34) - erhoben werden konnten, veranlaßten entsprechende Prüfungen mit einem frisch isolierten Stamm aus klinischem Untersuchungsmaterial. Neben dem aus Sputum gezüchteten C. albicans Stamm M 178 gelang gleichzeitig der Nachweis von S. aureus M 178. Dieser S. aureus Stamm wie die übrigen Staphylococcus Stämme und Stämme der Gattungen Pseudomonas und Proteus verhielten sich weitgehend übereinstimmend in den Proteolyse-Kulturfiltraten von C. albicans M 178 und C. albicans CBS 2730.

Hiermit wurde festgestellt, daß C. albicans Stämme, die über eine entsprechende Proteolyseaktivität verfügen, zur Schaffung eines Nährsubstrats für Bakterien, hier über den Abbau von Albumin, befähigt sind.

Die beschriebenen günstigen Wachstumsbedingungen für Bakterien verschiedener Gattungen im Proteolyse-Kulturfiltrat von C. albicans lassen auf keine Hemmstoffbildung durch C. albicans während der Proteolyse gegen die geprüften Bakterien schließen. Bekanntlich sind Dermato-

phyten, die ebenfalls durch den Besitz von Proteasen gekennzeichnet sind (Keratinolyse), Antibiotikabildner, teilweise besonders gegen S. aureus (51, 52, 55).

In diesem Zusammenhang sei darauf hingewiesen, daß im Rahmen der vorliegenden Untersuchung das Thema Hemmstoffbildung durch Bakterien gegen Pilze nicht eingeschlossen werden sollte (1, 4, 21, 28, 30, 58). Gegenstand dieser Arbeit sollte nur die Prüfung der möglichen bakteriellen Verwertbarkeit der Proteolyseendprodukte von C. albicans sein.

Die besprochenen Befunde machen eine kurze morphologische Betrachtung dieses Sproßpilzes in vitro und in vivo notwendig.

Während des gesamten Proteolyseablaufs in Serum-Protein-Medium (flüssig) findet sich C. albicans in der sog. Hefephase, d.h. in Form rundovaler sprossender Zellen. Hyphen- bzw. Myzelbildung konnte hierbei nie beobachtet werden (45, 47). Auf Serum-Protein-Agar dagegen können stammspezifische Verhaltensweisen vorkommen (43). Stark proteolysierende Stämme finden sich auch hier vorzugsweise in der Hefephase. Nicht selten kommt es zu einer plötzlichen Myzelbildung in das zuvor proteolysierte Substrat hinein (43, 47). Dieser mögliche Dimorphismus bei C. albicans steht bei der Pathogenese der Candidamykose immer noch als ungeklärter Faktor zur Diskussion (14, 43, 47).

In zunehmendem Maße wird der Hefephase, wie sie bei der Proteolyse in vitro vorliegt, mögliche Erregernatur zugesprochen. HURLEY und STANLEY (14) gehen bei ihren histologischen und morphologischen Untersuchungen in Mäusezellkulturen so weit, daß sie die Hefephase für die primäre Zerstörung der Wirtszelle verantwortlich machen; erst auf diesem Substrat soll es dann zum Übergang in die myzeliale Phase kommen. Eine jüngste Beobachtung über eine generalisierte Candidamykose mit Asteroidkörperbildung bestätigt C. albicans als Erreger in der Hefephase (3). Auch MASSHOFF und ADAM (27) weisen bei ihren Untersuchungen über die Histomorphologie der experimentellen Candida-Infektion auf die Vermehrung des Erregers als überwiegend durch Sprossung, d.h. Hefephase hin. Demzufolge ist die Hefephase von C. albicans als eine Erregerzustandsform neben der viel diskutierten Myzelphase bestätigt.

Die elektronenmikroskopischen Befunde von MONTES und WILBRON (29) über die orale Candidamykose lassen auf ein proteolysierendes Geschehen schließen. Nicht uninteressant ist hierbei der Nachweis von Bakterien in nächster Nähe extrazellulär gelagerter, in der Hefephase befindlicher C. albicans Zellen.

In Übereinstimmung mit der berechtigten kritischen Stellungnahme von SMITH (37) über "Biochemical challenge of microbial pathogenicity" sind die hier erhobenen und diskutierten in vitro Befunde nur als e i n e

Stoffwechselleistung zu sehen, die aus morphologischer und pathogenetischer Sicht eine gewisse Berücksichtigung verdient.

Abschließend sei auf eine Frage hingewiesen, die sich aus den in vitro Untersuchungen und dem Literaturstudium über S. aureus ergab: Von besonderem Interesse ist unter den Eigenschaften von S. aureus die Plasmakoagulase (15, 17, 53). Dieses vorzugsweise an der Zelloberfläche aber auch in zellfreien Extrakten nachweisbare Enzym kann durch Trypsin und Pepsin inaktiviert bzw. verdaut werden (16, 54). Inwieweit die Proteasen der C. albicans von Einfluß auf die Plasmakoagulase sind, wäre von Interesse.

V. Zusammenfassung

A. Prüfung der Verwertbarkeit des Proteolyse-Kulturfiltrats von Candida albicans CBS 2730 für Sproßpilze und Bakterien

1. Mikrobiologische Prüfung der Veränderung von Serum-Protein-Medium (flüssig) nach angelaufener Proteolyse unter Verwendung des Stammes C. albicans CBS 2730

Mit Hilfe der auxanographischen Methode von BEIJERINCK wurden vergleichend Serum-Protein-Medium (flüssig) und das hiervon mittels C. albicans CBS 2730 gewonnene Proteolyse-Kulturfiltrat auf ihre Verwertbarkeit als Stickstoffquelle untersucht. Diese Methode erwies sich für den Nachweis mikrobiell verwertbarer Proteolyseprodukte als geeignet.

2. Untersuchung über das Proteolyse-Kulturfiltrat von C. albicans CBS 2730 als Nährmedium für Staphylococcus Stämme

a) Zum Verhalten von Staphylococcus aureus M 106 im Proteolyse-Kulturfiltrat

Das nach abgelaufener Proteolyse gewonnene Kulturfiltrat von C. albicans CBS 2730 wurde auf seine Tauglichkeit als Nährsubstrat für S. aureus M 106 geprüft. Das Proteolyse-Kulturfiltrat mit Ausgangs-pH-Werten 6,0 und 7,2 bot S. aureus M 106 (von den Läsionen einer granulomatösen Soormykose isoliert) günstige Wachstumsbedingungen.

b) Untersuchungen über das Wachstum von S. aureus M 106 im Proteolyse-Kulturfiltrat mittels Keimzahlbestimmung

Nach 72 Std./37°C erreichte S. aureus M 106 eine Keimdichte (von 5,2 x 10^2/ml auf 5,0 x 10^8/ml), die der in Dextrose-Nährbouillon nach 24 Std./37°C (von 5,2 x 10^2/ml auf 2,0 x 10^8/ml) ungefähr entsprach.

Die Kontrollversuche mit Serum-Protein-Medium (flüssig) zeigten deutlich, daß S. aureus M 106 Rinderalbumin, das in diesem Medium als einzige Stickstoffquelle enthalten ist, nicht verwerten kann.

c) Wachstumsprüfung von S.aureus Stämmen verschiedenster Herkunft im Proteolyse-Kulturfiltrat

40 Stämme von S. aureus aus Untersuchungsmaterial Kranker isoliert, wurden auf ihre Wachstumsfähigkeit im Proteolyse-Kulturfiltrat geprüft.

Für 37 Stämme erwies sich das Proteolyse-Kulturfiltrat als ein Nährsubstrat. Nach 48 Std./37°C zeigten 29 Stämme in den Kulturfiltraten mit den Ausgangs-pH-Werten 6,0 und 7,2 Wachstum, die restlichen nach 72 Std./37°C. Im Proteolyse-Kulturfiltrat mit dem Ausgangs-pH-Wert 5,0 wuchsen insgesamt 22 Stämme.

Keiner der geprüften S. aureus Stämme wuchs in Serum-Protein-Medium (flüssig), d.h. keiner konnte unter

den gewählten methodischen Voraussetzungen Albumin als Stickstoffquelle verwerten.

d) Wachstumsprüfung von biologisch uneinheitlichen Staphylococcus Stämmen im Proteolyse-Kulturfiltrat

Von Staphylokokken mit den verschiedenen biologischen Aktivitäten hinsichtlich Pigmentbildung (gelb), Hämolysefähigkeit, Plasmakoagulase und Fähigkeit zur Mannitspaltung boten Stämme mit fehlender Pigmentbildung ein auffälliges Verhalten im Proteolyse-Kulturfiltrat. Unabhängig von der Hämolysefähigkeit zeigten die unpigmentierten Staphylococcus Stämme im Proteolyse-Kulturfiltrat kein oder auffällig verzögertes Wachstum. Die Bewertung dieser Beobachtung fordert die Prüfung einer genügend großen Zahl solcher Stämme.

3. Zum Verhalten von Pseudomonas und Proteus Stämmen im Proteolyse-Kulturfiltrat

Zum Vergleich der Beobachtungen über das Verhalten von Staphylokokken im Proteolyse-Kulturfiltrat von C. albicans wurde die Wachstumsfähigkeit anderer Bakterien in diesem Substrat geprüft.

Die untersuchten Stämme von Pseudomonas aeruginosa (4), P. fluorescens (2), Proteus mirabilis (1) und P. vulgaris (1) aus klinischem Untersuchungsmaterial isoliert, fanden im Proteolyse-Kulturfiltrat noch günstigere Wachstumsbedingungen als S. aureus.

4. Nachweis mikrobiologisch verwertbarer niedermolekularer Stickstoffverbindungen während des Proteolyseablaufs

a) Auxanographische Prüfung des Kulturfiltrats

Mittels der auxanographischen Prüfung des Kulturfiltrats beim Proteolyseablauf wurde festgestellt, daß bereits nach 36 Std. bzw. vor Einsetzen der optimalen vollständigen Proteolyse, für C.albicans verwertbare niedermolekulare N-Substanzen vorliegen.

b) Prüfung der bakteriellen Verwertbarkeit der Kulturfiltrate während des Proteolyseablaufs Wachstumsprüfung von S. aureus im Proteolyse-Kulturfiltrat

In Übereinstimmung mit dem vorausgegangenen Ergebnis wurde festgestellt, daß schon vor Eintritt der für C. albicans optimalen Proteolyseaktivität (bei pH 3,5) im Kulturmedium bereits zwischen pH 4,5 und pH 4,0 für Bakterien wie für C. albicans verwertbare niedermolekulare Stickstoffsubstanzen anfallen.

B. Prüfung der Verwertbarkeit des Proteolyse-Kulturfiltrats eines frisch aus menschlichem Untersuchungsmaterial isolierten Stammes von C.albicans für Bakterien

Die bei Verwendung des Sammlungsstammes C. albicans CBS 2730 - mit biochemisch definierter Proteolyseaktivität - erhobenen Befunde über den Eiweißabbau

und die damit verbundene Nährsubstratbildung für Bakterien wie für Sproßpilze, veranlaßte entsprechende Kontrolluntersuchungen mit einem frisch aus Untersuchungsmaterial isolierten C. albicans Stamm. Der für diese Kontrolluntersuchung verwendete C. albicans Stamm M 178 wurde neben S. aureus M 178 aus dem Sputum eines Lungenkranken isoliert. Dieser Stamm zeigte auf Serum-Protein-Agar dieselbe Proteolyseaktivität wie C. albicans CBS 2730. Das Proteolyse-Kulturfiltrat dieses Isolats erwies sich als Nährsubstrat für diesen S. aureus Stamm. Darüber hinaus zeigten mit Ausnahme eines S. aureus Stammes sämtliche im Proteolyse-Kulturfiltrat von C.albicans CBS 2730 geprüften Bakterienstämme dasselbe Verhalten d.h. Wachstum.

Der gegenwärtige Stand über die Proteolyse bei C. albicans als häufigster Erreger der Candidamykose, als Saprophyt auf Haut und Schleimhäuten und möglicher Begleitkeim fakultativ-pathogener Bakterien wird anhand klinischer und mikrobiologischer Befunde diskutiert.

VI. Literaturverzeichnis

1. BANIČ,S.: ANTAGONISTISCHE WIRKUNG VON ENTEROBACTERIACEEN AUF STAPHYLOKOKKEN UND CANDIDA ALBICANS. Zbl.Bakt.I.Abt.Orig. 180, 27-29 (1960)

2. BARLOW,A.J.E., CHATTAWAY,F.W., HOLGATE,M.C. and ALDERSLEY,T.: CHRONIC PARONYCHIA. Brit.J.Derm. 82, 448-453 (1970)

3. BERGE,T. and KAPLAN,W.: SYSTEMIC CANDIDIASIS WITH ASTEROID BODY FORMATION. Sabouraudia 5, 310-314 (1967)

4. BERNHARDT,H.: DIE BEEINFLUßBARKEIT DES HEFEWACHSTUMS DURCH BAKTERIEN DER MUNDSCHLEIMHAUT. Zbl.Bakt.I.Abt.Orig. 189, 316-325 (1963)

5. BLAIR,J.E.: WHAT IS A STAPHYLOCOCCUS. Bact.Rev. 26, 375-381 (1962)

6. BRANDIS,H.: DIE ANWENDUNG VON PHAGEN IN DER BAKTERIOLOGISCHEN DIAGNOSTIK MIT BESONDERER BERÜCKSICHTIGUNG DER TYPISIERUNG VON TYPHUS- und PARATYPHUS B-BAKTERIEN SOWIE STAPHYLOKOKKEN. Ergebn.Mikrobiol. 30, 96-159 (1957)

7. BREED,R.S., MURRAY,E.G.D. and SMITH,N.R.: BERGEY'S MANUAL OF DETERMINATIVE BACTERIOLOGY, 7. Auflage, The Williams & Wilkins Comp., Baltimore, USA, 1957

8. O'BRIEN,J.P.: EXPERIMENTAL MILIARIA. AN INSTANCE WITH STAPHYLOCOCCI AND CANDIDA IN THE LESIONS. J.invest.Derm. 24, 115-124 (1955)

9. FASOLD,H., REMOLD,H. und STAIB,F.: ANREICHERUNG UND CHARAKTERISIERUNG EINES PROTEOLYTISCHEN ENZYMS AUS CANDIDA ALBICANS. Hoppe-Seylers Z.physiol.Chem. 348, 1225-1251 (1967)

10. FASOLD,H.: PERSÖNLICHE MITTEILUNG. (1971)

11. GRÜN,L.: ÜBER NEUE STAPHYLOKOKKEN-ANTIGENE. Zbl.Bakt.I.Abt.Orig. 181, 209-215 (1961)

12. GRÜN,L.: DIE STAPHYLOKOKKENINFEKTIONEN. Die Infektionskrankheiten des Menschen und ihre Erreger, A. Grumbach und W. Kikuth, Georg Thieme Verlag Stuttgart, Band 1, 2.Auflage, 589-615 (1969)

13. HACKENTHAL,H. und BIERKOWSKI,E.: KULTURELLE ANALYSE AM STAPHYLOCOCCUS AUREUS HAEMOLYTICUS SG 511. Zbl.Bakt.I.Abt.Orig. 162, 160-168 (1955)

14. HURLEY,R. and STANLEY,V.C.: CYTOPATHIC EFFECTS OF PATHOGENIC AND NONPATHOGENIC SPECIES OF CANDIDA ON CULTURED MOUSE EPITHELIAL CELLS: RELATION TO THE GROWTH RATE AND MORPHOLOGY OF THE FUNGI. J.Med.Microbiol. 2, 63-74 (1969)

15. HUTCHISON,J.G.P.: MULLER'S PHENOMENON AND ITS RELATIONSHIP TO PLASMINOGEN ACTIVATION AND TO BLOOD CONSTITUENTS PRODUCING OPACITY IN AN AGAR GEL. J.Path.Bact.84, 289-306 (1962)

16. JACHERTS,D. und JACJERTS,B.: ÜBER DIE BEEINFLUSSUNG DER COAGULASEBILDUNG DURCH NUCLEINSÄUREN. Z.Hyg.Infekt.-Kr.144, 389-400 (1958)

17. JELJASZEWICZ,J. und PULVERER,G.: ZUR BIOLOGISCHEN AKTIVITÄT PATHOGENER STAPHYLOKOKKEN. Dtsch.Med.Wschr. 94, 2349-2354 (1969)

18. KAPICA,L. and BLANK,F.: GROWTH OF CANDIDA ALBICANS ON KERATIN AS SOLE SOURCE OF NITROGEN. Dermatologica (Basel) 115, 81-105 (1957)

19. KIENITZ,M.: ÜBER DEN NACHWEIS DES STAPHYLOKOKKEN-ENTEROTOXINS: 2. UNTERSUCHUNGEN ZUR WIRKUNG ENTEROTOXINBILDENDER STAPHYLOKOKKEN AUF HÜHNEREMBRYONEN. Zbl.Bakt.I.Abt.Orig. 173, 203 (1958)

20. KONRAD,J. und WINKLER,A.: BEITRAG ZUM PROBLEM DER MONILIASIS. Derm.Wschr. 131, 73-82 (1955)

21. LAMMERS,T.: STAPHYLOKOKKEN DER HAUT ALS SYMBIONTEN, EPIPHYTEN UND PARASITEN. Fette, Seifen, Anstrichmittel 72, 388-391 (1970)

22. LANGE,F.C., PEVNY,I. and STAIB,F.: DAS CANDIDAGRANULOM UND SEINE BEHANDLUNG BEI GLEICHZEITIGER STAPHYLOKOKKENINFEKTION. Dtsch.Med.Wschr. 92, 192-199 (1970)

23. LINZENMEIER,G.: BAKTERIOLOGISCHE PROBLEME DER POSTTRAUMATISCHEN OSTEOMYELITIS. Die Posttraumatische Osteomyelitis, F.K. Schattauer Verlag, Stuttgart - New York, 215-221 (1970)

24. LODDER,J. and KREEGER-VAN RIJ,N.J.W.: THE YEASTS. North Holland Publ. Comp., Amsterdam/Holland (1952)

25. MARTEN,R.H.: CHRONIC PARONYCHIA. A MYCOLOGICAL STUDY AND BACTERIOLOGICAL. Brit.J.Derm. 71, 422-426 (1959)

26. MAASSEN,W. und WULKOW,R.: ZUR BIOLOGIE UND RESISTENZ PATHOGENER STAPHYLOKOKKEN UNTER BESONDERER BERÜCKSICHTIGUNG DER HÄMOLYSIERENDEN TOXINE BEI VERSCHIEDENEN ERKRANKUNGEN. Zbl.Bakt.I.Abt.Orig. 208, 161-169 (1968)

27. MASSHOFF,W. und ADAM,W.: HISTOMORPHOLOGIE DER EXPERIMENTELLEN CANDIDA-INFEKTION. Arch.klin.exp.Derm. 204, 416-447 (1957)

28. MEHNERT,B. und SCHIEFER,B.: WECHSELSEITIGE BEZIEHUNGEN VON CANDIDA ALBICANS UND STAPHYLOCOCCUS AUREUS IM INFEKTIONSGESCHEHEN. Krankheiten durch Aktinomyzeten und verwandte Erreger, Springer-Verlag Berlin, Heidelberg, New York (1967)

29. MONTES,L.F. and WILBORN,W.H.: ULTRASTRUCTURAL FEATURES OF HOST-PARASITE RELATIONSHIP IN ORAL CANDIDIASIS. J.Bact. 96, 1349-1356 (1968)

30. PAINE,Jr.T.F.: THE INHIBITORY ACTIONS OF BACTERIA ON CANDIDA GROWTH. Antibiot.and Chemother. 8, 273-281 (1958)

31. PÖHN,H.-Ph.: DIE SPEZIFITÄT DER TYPENPHAGEN FÜR DIE EINZELNEN STAPHYLOKOKKEN GRUPPEN. Zbl.Bakt.I.Abt.Orig. 168, 533-541 (1957)

32. PÖHN,H.-Ph. und KIENITZ,M.: ÜBER DEN NACHWEIS DES STAPHYLOKOKKEN-ENTEROTOXINS. Zbl.Bakt.I.Abt.Orig. 177, 555-559 (1960)

33. PULVERER,G.: LYSOTYPIE, SEROLOGIE UND ANTIBIOGRAMME PYOGENER STAPHYLOKOKKEN IM KÖLNER RAUM. Z.Hyg. 147, 417-433 (1961)

34. REMOLD,H., FASOLD,H. and STAIB,F.: PURIFICATION AND CHARAKTERIZATION OF A PROTEOLYTIC ENZYME FROM CANDIDA ALBICANS. Biochim.Biophys.Acta 167, 399-406 (1968)

35. ROSNER,R.: ISOLATION OF PROTOPLASTS OF S. AUREUS FROM A CASE OF RECURRENT ACUTE OSTEOMYELITIS. J.clin.Path. 50, 385-390 (1968)

36. SMITH,D.D., MORRISON,R.B. and LOMINSKI,I.: ISOLATION OF VARIANTS OF STAPHYLOCOCCUS AUREUS GIVING HIGH AND LOW YIELDS OF COAGULASE. J.Path.Bact. 64, 567-573 (1952)

37. SMITH,H.: BIOCHEMICAL CHALLENGE OF MICROBIAL PATHOGENICITY. Bact.Rev. 32, 164-184 (1968)

38. SCHMIDT,B.: UNTERSUCHUNGEN ÜBER DIE VERBREITUNG VON STAPHYLOKOKKEN IN KRANKENHÄUSERN. Zbl.Bakt.I.Abt.Orig. 170, 119-129 (1957/58)

39. SCHMIDT,B.: LENK,V.: BEOBACHTUNGEN ÜBER DIE BEZIEHUNGEN ZWISCHEN ANTIBIOTIKA-RESISTENZ UND PHAGENBILD BEI PATHOGENEN STAPHYLOKOKKEN. Zbl.Bakt.I.Abt.Orig. 171, 590-600 (1957/58)

40. SCHMIDT,J.: VORKOMMEN VON STAPHYLOCOCCUS AUREUS-MEHRFACHINFEKTIONEN BEI GESCHLOSSENEN UND OFFENEN EITERPROZESSEN. Path.et MICROBIOL (Basel) 28, 974-984 (1965)

41. STAIB,F.: DAS SERUM-RESTSTICKSTOFF-AUXANOGRAMM (MIT SPROß- UND SCHIMMELPILZEN). Zbl.Bakt.I.Abt.Orig. 194, 379-406 (1964)

42. STAIB,F.: SERUM-PROETIN-AGAR pH 4,2 und 5,0 FÜR SPROßPILZE. Zbl.Bakt.I.Abt.Orig. 195, 265-267 (1964)

43. STAIB,F.: SERUM-PROTEINS AS NITROGEN SOURCE FOR YEASTLIKE FUNGI. Sabouraudia 4, 187-193 (1965)

44. STAIB,F.: DAS VERHALTEN VON CANDIDA ALBICANS- UND CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS-STÄMMEN GEGENÜBER HUMAN-SERUM-PROTEINEN. Mycopathologia (Den Haag) 26, 109-224 (1965)

45. STAIB,F.: HUMAN SERUM ALBUMIN DECOMPOSITION BY CANDIDA ALBICANS, INFLUENCED IN VITRO. Recent advances of human and animal mycology, Publishing House of the Slovak Academy of Sciences, Bratislava, 337-340 (1967)

46. STAIB,F. und BRAUN,H.: CANDIDA TROPICALIS BEI PATHOLOGISCHEN LUNGENBEFUNDEN. Dtsch.Med.Wschr. 86, 940-944 (1961)

47. STAIB,F.: PERSÖNLICHE MITTEILUNG. (1970)

48. STAIB,F. und GEIER,R.: PROTEOLYSIS PRODUCTS OF CANDIDA ALBICANS AS A SUBSTRATUM FOR GROWTH OF STAPHYLOCOCCUS AUREUS. im Druck (1971)

49. STONE,O.J. and MULLINS,J.F.: CHRONIC PARONYCHIA. Arch.Derm. 86, 324-327 (1962)

50. STONE,O.J. and MULLINS,J.F.: EXPERIMENTAL STUDIES ON CHRONIC PARONYCHIA. Arch.Derm. 89, 455-460 (1964)

51. URI,J., JUHASZ,P. und CSOBAN,G.: ÜBER DIE PENICILLINBILDUNG VON TRICHOPHYTON-MENTAGROPHYTES-STÄMMEN. Pharmazie 10, 709-713 (1955)

52. URI,J., SZATHMÁRY,S. und HERPAY,Zs.: ÜBER DIE ANTIBIOTICAPRODUCTION VON PILZEN AM ORT IHRES NATÜRLICHEN VORKOMMENS. Pharmazie 12, 485-488 (1957)

53. VANBREUSEGHEM,R. et GRATIA,A.: COAGULATION ET FIBRINOLYSE DU PLASMA ET SA STAPHYLOCOAGULASE. ET DU FIBRINOGÈNE PAR LE STAPHYLOCOQUE. Extrait des Comptes rendus des séances de la Société de biologie. Société belge de biologie 116, 344 (1934)

54. WALKER,B.S. SCHAFFER,N.K. and DEROW,M.A.: INACTIVATION OF STAPHYLOCOAGULASE BY TRYPSIN AND PEPSIN. Science 106, 347 (1947)

55. WALLERSTRÖM,A.: PRODUCTION OF ANTIBIOTICS BY EPIDERMOPHYTON FLOCCOSUM. 2.MICROFLORA IN EPIDERMOPHYTON-INFECTED SKIN AND ITS RESISTANCE TO ANTIBIOTICS PRODUCED BY THE FUNGUS. Acta Path.microbiol.Scand. 74, 531-542 (1968)

56. WHITTLE,C.H., MOFFATT,J.L. and DAVIS,R.A.: PARONYCHIA OR PERIONYCHIA: AETIOLOGICAL ASPECTS. Brit.J.Derm. 71, 1-11 (1959)

57. WILSON,J.W.: PARONYCHIA AND ONYCHOLYSIS, ETIOLOGY AND THERAPY. Arch.Derm. 92, 726-730 (1965)

58. YOUNG,G., KRASNER,R.I. and YUDKOFSKY,P.L.: INTERACTIONS OF ORAL STRAINS OF CANDIDA ALBICANS AND LACTOBACILLI. J.Bact. 72, 525-529 (1956)

Herrn Privatdozenten Dr. Dr. F. S t a i b möchte ich für die Überlassung des Themas und seine stete Hilfsbereitschaft bei der Durchführung dieser Arbeit herzlich danken.

Lebenslauf

Reinhild Maria Elisabeth Geier

geb. 26.11.1943 in Niklasdorf Kreis Freiwaldau/
Sudetenland

Eltern: Alois Geier Sekretär gefallen 8.1.1944
Mechthild Geier geb. Zachradnik
Kindergärtnerin

1946 wurden wir von unserer Heimat nach Bayern ausgesiedelt.

1949 trat ich in die Volksschule Hainhofen bei Augsburg ein, die ich bis zur 6. Klasse besuchte. Anschließend besuchte ich das Deutsche Gymnasium Maria Stern Göggingen, wo ich 1963 mein Abitur ablegte.

Medizin studierte ich in Würzburg. 1969 bestand ich dort mein medizinisches Staatsexamen. Meine Medizinalassistentenzeit absolvierte ich in Berlin.